

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-311098

(43)Date of publication of application : 26.11.1996

---

(51)Int.Cl.

C07K 7/06  
A61K 38/00  
C07K 5/09  
C07K 5/107

---

(21)Application number : 07-146742

(71)Applicant : DAICEL CHEM IND LTD  
FUJISAWA PHARMACEUT CO  
LTD

(22)Date of filing : 22.05.1995

(72)Inventor : KIMURA HITOSHI  
KAWAMOTO TAKAFUMI  
ITO MASAOKI  
SENOO HACHIRO  
SEKI NOBUO

---

**(54) NEW PEPTIDES AND INTERLEUKIN 6 ANTAGONISTIC AGENT CONTAINING THE PEPTIDE**

**(57)Abstract:**

**PURPOSE:** To obtain a peptide or its derivative composed of relatively small number of constituent amino acids, exhibiting antagonistic action on IL-6 and capable of inhibiting the development of the activity and to provide an IL-6 antagonistic agent containing the peptide.

**CONSTITUTION:** The objective peptide is a pentapeptide expressed by general formula (I): X-A-B-D-Y (X is hydrogen, an amino-protecting group, an amino acid residue or a peptide residue consisting of 2-10 amino acids bonded with each other; Y is hydroxyl, amino, a carboxyl-protecting group, an amino acid residue or a peptide residue consisting of 2-5 amino acids bonded with each other; A is Arg residue or other amino acid residue optionally having a protective group on guanidino group; D is Arg residue optionally having a protective group on guanidino group; B is Leu residue or other amino acid residue including non-natural amino acid and optionally having protective group on the side chain functional group of the amino acid). The present invention also relates to an interleukin-6 antagonistic agent containing the pentapeptide.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-311098

(43) 公開日 平成8年(1996)11月26日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 7/06		8517-4H	C 0 7 K 7/06	
A 6 1 K 38/00	A B C	8517-4H	5/09	
C 0 7 K 5/09		8517-4H	5/107	
5/107			A 6 1 K 37/02	A B C

審査請求 未請求 請求項の数16 F D (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願平7-146742

(22) 出願日 平成7年(1995)5月22日

(71) 出願人 000002901

ダイセル化学工業株式会社  
大阪府堺市鉄砲町1番地

(71) 出願人 000005245

藤沢薬品工業株式会社  
大阪府大阪市中央区道修町3丁目4番7号  
(72) 発明者 木村 仁  
茨城県つくば市千現1-14-14 パークハイツ千現404号

(72) 発明者 河本 隆文

新潟県上越市中田原87-1-B-102

(74) 代理人 弁理士 三浦 良和

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規ペプチド類およびそれを含有するインターロイキン6拮抗剤

(57) 【要約】 (修正有)

【目的】 構成アミノ酸数が比較的少ないペプチド又はその誘導体でIL-6に拮抗的に作用し、その活性発現を阻害出来るペプチド類およびそれを含有するIL-6拮抗剤を提供する。

【構成】 一般式(I): X-A-B-D-Y (式中、Xは水素、アミノ保護基、アミノ酸残基または2~10個のアミノ酸が結合したペプチド残基を示す。Yは水酸基、アミノ基、カルボキシル保護基、アミノ酸残基または2~5個のアミノ酸が結合したペプチド残基を示す。Aはグアニジノ基に保護基を有してもよいArg残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示す。Dはグアニジノ基に保護基を有してもよいArg残基である。BはLeu残基または非天然型アミノ酸を含むそれ以外のアミノ酸残基で、そのアミノ酸の有する側鎖官能基には保護基を有していてもよい。)で示されるペプチド類、またはそれを含有するインターロイキン6拮抗剤。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式(I):  $X-A-B-D-Y$ 

(式中、Xは水素、アミノ保護基、アミノ酸残基または2〜10個のアミノ酸が結合したペプチド残基を示す。Yは水酸基、アミノ基、カルボキシル保護基、アミノ酸残基または2〜5個のアミノ酸が結合したペプチド残基を示す。Aはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示す。Dはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基である。Bはロイシン残基または非天然型アミノ酸を含むそれ以外のアミノ酸残基で、そのアミノ酸の有する側鎖官能基には保護基を有していてもよい。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

【請求項2】 一般式(I)中のA及びDが共にグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基であることを特徴とする請求項1記載のペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

【請求項3】 一般式(I)中のA及びDが共にアルギニン残基であり、Bがロイシン残基であることを特徴とする請求項2記載のペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

【請求項4】 一般式(II):  $E-F-G-H-Ar-g-NH_2$ 

(式中、E、F及びHはその官能基に保護基を有していてもよいアミノ酸残基であり、Gはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示す。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

【請求項5】 一般式(II)中、Eはアスパラギン、チロシン、プロリン、ロイシン、セリン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、トリプトファン、アラニン、メチオニン、アスパラギン酸またはグルタミン酸の各アミノ酸残基及びこれらの残基が有する官能基に保護基を有するアミノ酸残基の群から選ばれるいずれか1つであり、Fはチロシン残基、Gはアルギニン残基、Hはロイシン残基であることを特徴とする請求項4記載のペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

【請求項6】 一般式(II)中のEがフェニルアラニン残基、Fがロイシン、フェニルアラニン、セリン、アルギニン、ヒスチジン、トリプトファン、アスパラギン酸、グルタミン酸、メチオニン、プロリン、アラニン、リジン、グリシンまたはアスパラギンの各アミノ酸残基及びこれらの残基が有する官能基に保護基を有するアミノ酸残基の群から選ばれるいずれか1つであり、Gがアルギニン残基、Hがロイシン残基であることを特徴とする請求項4記載のペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

【請求項7】 一般式(II)中のEがフェニルアラニン残基、Fがチロシン残基、Gがチロシン、リジン、ヒスチジン、トリプトファン、プロリン、アラニン、ロイ

シン、アスパラギン、セリン、アスパラギン酸、グルタミン酸またはメチオニンの各アミノ酸残基及びこれら残基が有する官能基に保護基を有するアミノ酸残基の群から選ばれるいずれか1つであり、Hがロイシン残基であることを特徴とする請求項4記載のペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

【請求項8】 一般式(II)中のEがフェニルアラニン残基、Fがチロシン残基、Gがアルギニン残基、Hがトリプトファン、アラニン、イソロイシン、アスパラギン、チロシン、フェニルアラニン、セリン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、グルタミン酸、メチオニン、グリシン、プロリンまたはアスパラギン酸の各アミノ酸残基及びこれら残基に有する官能基に保護基を有するアミノ酸残基の群から選ばれるいずれか1つであることを特徴とする請求項4記載のペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

【請求項9】 一般式(I):  $X-A-B-D-Y$ 

(式中、Xは水素、アミノ保護基、アミノ酸残基または2〜10個のアミノ酸が結合したペプチド残基を示す。Yは水酸基、アミノ基、カルボキシル保護基、アミノ酸残基または2〜5個のアミノ酸が結合したペプチド残基を示す。Aはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示す。Dはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基である。Bはロイシン残基または非天然型アミノ酸を含むそれ以外のアミノ酸残基で、そのアミノ酸の有する側鎖官能基には保護基を有していてもよい。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類と共に医薬として許容される担体を含むことを特徴とするインターロイキン6拮抗剤。

【請求項10】 一般式(I)中のA及びDが共にグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基であることを特徴とする請求項9記載のインターロイキン6拮抗剤。

【請求項11】 一般式(I)中のA及びDが共にアルギニン残基であり、Bがロイシン残基であることを特徴とする請求項10記載のインターロイキン6拮抗剤。

【請求項12】 一般式(II):  $E-F-G-H-Ar-g-NH_2$ 

(式中、E、F及びHはその官能基に保護基を有していてもよいアミノ酸残基であり、Gはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示す。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類と共に医薬として許容される担体を含むことを特徴とするインターロイキン6拮抗剤。

【請求項13】 一般式(II)中、Eはアスパラギン、チロシン、プロリン、ロイシン、セリン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、トリプトファン、アラニン、メチオニン、アスパラギン酸またはグルタミン酸の各ア

ミノ酸残基及びこれらの残基が有する官能基に保護基を有するアミノ酸残基の群から選ばれるいずれか1つであり、Fはチロシン残基、Gはアルギニン残基、Hはロイシン残基であることを特徴とする請求項12記載のインターロイキン6拮抗剤。

【請求項14】 一般式(11)中のEがフェニルアラニン残基、Fがロイシン、フェニルアラニン、セリン、アルギニン、ヒスチジン、トリプトファン、アスパラギン酸、グルタミン酸、メチオニン、プロリン、アラニン、リジン、グリシンまたはアスパラギンの各アミノ酸残基及びこれらの残基が有する官能基に保護基を有するアミノ酸残基の群から選ばれるいずれか1つであり、Gがアルギニン残基、Hがロイシン残基であることを特徴とする請求項12記載のインターロイキン6拮抗剤。

【請求項15】 一般式(11)中のEがフェニルアラニン残基、Fがチロシン残基、Gがチロシン、リジン、ヒスチジン、トリプトファン、プロリン、アラニン、ロイシン、アスパラギン、セリン、アスパラギン酸、グルタミン酸またはメチオニンの各アミノ酸残基及びこれらの残基が有する官能基に保護基を有するアミノ酸残基の群から選ばれるいずれか1つであり、Hがロイシン残基であることを特徴とする請求項12記載のインターロイキン6拮抗剤。

【請求項16】 一般式(11)中のEがフェニルアラニン残基、Fがチロシン残基、Gがアルギニン残基、Hがトリプトファン、アラニン、イソロイシン、アスパラギン、チロシン、フェニルアラニン、セリン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、グルタミン酸、メチオニン、グリシン、プロリンまたはアスパラギン酸の各アミノ酸残基及びこれらの残基に有する官能基に保護基を有するアミノ酸残基の群から選ばれるいずれか1つであることを特徴とする請求項12記載のインターロイキン6拮抗剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明はインターロイキン6拮抗作用を有する新規なペプチド類または医薬として許容されるその塩類ならびに医薬として許容される担体と共に前記ペプチド類もしくはその塩類を含有し、ヒトインターロイキン6の活性発現を阻害する新規なインターロイキン6拮抗剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】B細胞の抗体産生を誘導するB細胞分化因子(BCDF/BSF-2)に関するcDNAのクローニングやアミノ酸配列の決定等がなされたことにより、該B細胞分化因子は、これまで互いに異なる物質として独立して研究されていたインターフェロン $\beta_2$ (IFN $\beta_2$ )、ハイブリドーマ/プラズマサイトーマ増殖因子(HPGF)そして肝細胞刺激因子(HSF)と同一物質であることが判明し、これらの物質を総称してイ

ンターロイキン6(以下、IL-6と略記する)と呼ぶようになった。

【0003】このIL-6は、上述したようにB細胞分化因子として抗体産生を増強させたり、また肝細胞刺激因子として急性期タンパク質の合成を誘導する等、炎症や感染に対する生体防御機構において極めて重要な機能を担う重要なタンパク質であるが、その一方では、該IL-6の過剰産生が原因と考えられる疾患も問題になっている。例えばメディカル・イムノロジー(Medical Immunology)第15巻、195~201頁(1988年)には、IL-6と自己免疫疾患との関連について報告されている。また、現代化学増刊18「サイトカイン」免疫応答及び細胞の増殖・分化因子、大沢利昭編、71~85頁(1990年、出版:東京化学同人)にはIL-6が原因物質として関与する疾患として、慢性関節リウマチ、心房内粘液腫、キャッスルマン病、ミエローマ、レンネルTリンパ腫、メサングウム増殖性腎炎等の種々の自己免疫疾患が挙げられている。

【0004】この様にIL-6は種々の自己免疫疾患の原因物質と考えられるので、これらの疾患を治療することを目的として、IL-6分子の活性発現部位に関する研究、及びこの活性発現部位に対して拮抗的に作用し、IL-6の働きを阻害する物質の開発が進められている。

【0005】IL-6分子の活性発現部位に関する研究報告によれば、例えばJust P. J. Brakenhoff等は、従来シグナルペプチドと考えられていたIL-6分子のN末端の28個のアミノ酸からなるペプチド残基はIL-6の活性発現には不要であると報告している(The Journal of Immunology、143巻、1175~82頁、1989年)。また、A. Kruttgen等は、IL-6のC端から3番目のアミノ酸が活性発現に必須であると報告している(FEBS Letters、273巻、95~98頁、1990年)。更に、C. Nishimura等はIL-6分子をNMRにより解析し、IL-6がその受容体に結合する際には、C端に近い部分が結合に重要な働きをすると予測している(FEBS Letters、281巻、167~169頁、1991年)。しかしながら、いずれの報告においてもIL-6の活性発現部位は特定できておらず、その活性発現に対して拮抗作用を有する物質は未だ発見されていない。

【0006】また、IL-6の活性発現部位に対して拮抗的に作用し、IL-6の働きを阻害すると考えられる物質として、例えばBSF-2(IL-6と同一物質)のN末端及びC末端から複数個のアミノ酸が欠損したポリペプチドが開示されている(特開平2-188600号公報)。しかし、上記公開公報で開示されている物質は全アミノ酸数が20個以上からなるペプチドであり、このような長鎖のペプチドを製造するには複数の化学合成法を駆使する必要がある、操作が煩雑で、且つ技術的に

も困難な問題を伴うことが多く、実用性に欠けるものである。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、上記のような問題に鑑みてなされたものであり、その目的は、構成アミノ酸数が比較的少ないペプチドまたはその誘導体であってI L-6に対して拮抗的に作用し、その活性発現を阻害することの出来るペプチド類または医薬として許容されるその塩類およびそれを含有するI L-6拮抗剤を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明は、一般式  
(I) : X-A-B-D-Y (式中、Xは水素、アミノ保護基、アミノ酸残基または2～10個のアミノ酸が結合したペプチド残基を示す。Yは水酸基、アミノ基、カルボキシル保護基、アミノ酸残基または2～5個のアミノ酸が結合したペプチド残基を示す。Aはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示す。Dはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基である。Bはロイシン残基または非天然型アミノ酸を含むそれ以外のアミノ酸残基で、そのアミノ酸の有する側鎖官能基には保護基を有し

ていてもよい。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類を提供し、更にはこれらと共に医薬として許容される担体を含有することを特徴とするインターロイキン6拮抗剤を提供するものである。また本発明は一般式(I I) : E-F-G-H-A r g-NH<sub>2</sub> (式中、E、F及びHはその官能基に保護基を有していてもよいアミノ酸残基であり、Gはグアニジノ基に保護基を有してもよいアルギニン残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示す。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類を提供し、更にはこれらと共に医薬として許容される担体を含有することを特徴とするインターロイキン6拮抗剤を提供するものである。

【0009】なお、本明細書においてアミノ酸残基、保護基、溶媒等を略号で表示する場合には、IUPAC及びICBの規定または当該分野における慣用記号に従うものとする。表-1から表-3にそれらの慣用記号を示す。またペプチド中のアミノ酸配列は慣用の記載方法に従い、N末端のアミノ酸残基が左側に位置し、C末端のアミノ酸配列が右側に位置するように記述する。

【0010】

【表1】

表-1 アミノ酸残基の慣用記号

Ala	Ｌ-アラニン残基	Phe	Ｌ-フェニルアラニン残基
Arg	Ｌ-アルギニン残基	Pro	Ｌ-プロリン残基
Asn	Ｌ-アスパラギン残基	Ser	Ｌ-セリン残基
Asp	Ｌ-アスパラギン酸残基	Thr	Ｌ-トレオニン残基
Gln	Ｌ-グルタミン残基	Trp	Ｌ-トリプトファン残基
Glu	Ｌ-グルタミン酸残基	Tyr	Ｌ-チロシン残基
Gly	グリシン残基	Val	Ｌ-バリン残基
His	Ｌ-ヒスチジン残基	Tle	Ｌ-ターシャリー-ロイシン残基
Ile	Ｌ-イソロイシン残基	Cha	Ｌ-シクロヘキシルアラニン残基
Leu	Ｌ-ロイシン残基	Phg	Ｌ-フェニルグリシン残基
Lys	Ｌ-リジン残基	β-Ala	ベータ-アラニン残基
Met	Ｌ-メチオニン残基		

【0011】

【表2】

表-2 保護基の慣用記号

<b>アミノ保護基</b>	
Boc	t-ブトキシカルボニル
Cl-Z	2-クロロベンジルオキシカルボニル
Br-Z	2-ブロモベンジルオキシカルボニル
Bzl	ベンジル
Fmoc	9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
Mbh	4, 4'-ジメトキシジベンズヒドリル
Mtr	4-メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルホニル
Trt	トリチル
Tos	トシル
Z	ベンジルオキシカルボニル
Cl <sub>2</sub> -Bzl	2, 6-ジクロロベンジル
<b>グアニジノ保護基</b>	
NO <sub>2</sub>	ニトロ
Pmc	2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル
<b>水酸基保護基</b>	
tBu	t-ブチル

【0012】

【表3】

表-3 溶媒その他の慣用記号

DMF	N, N-ジメチルホルムアミド
DCM	ジクロロメタン
NMP	N-メチルピロリドン
DCC	ジシクロヘキシルカルボジイミド
DIEA	N, N-ジイソプロピルエチルアミン
HOBt	N-ヒドロキシベンゾトリアゾール
HOSu	N-ヒドロキシコハク酸イミド
TBTU	2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル) テトラメチルウロニウムヘキサフルオロフォスフェート
TFA	トリフルオロ酢酸

【0013】本発明の一般式(I)において、Xは水素、アミノ保護基、アミノ酸残基または2~10個のアミノ酸が結合したペプチド残基である。上記アミノ保護基としては、Boc基、トリクロロエトキシカルボニル基、t-アミルオキシカルボニル基等の置換基を有してもよいアルコキシカルボニル基；シクロペンチルオキシカルボニル基、シクロヘキシルオキシカルボニル基等の置換基を有してもよいシクロアルコキシカルボニル基；Z基、p-メトキシベンジルオキシカルボニル基、Cl-Z基、Br-Z基、p-ニトロベンジルオキシカルボニル基、アダマンチルオキシカルボニル基、Fmoc基等の置換基を有してもよいアラルキルオキシカルボニル基；アセチル基、トリフルオロアセチル基、ホルミル基、プロピオニル基、フェニルアセチル基、フェニルプロピオニル基、ベンゼンスルフォニル基、Tos基等の置換基を有してもよいアシル基等を例示することができる。また、アミノ酸残基としてはPheまたはTyrを例示することができる。さらにペプチド残基としては、H-Trp-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-、H-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-、H-Ser-Ser-Phe-Tyr-、H-Ser-

Phe-Tyr-、H-Phe-Tyr-を例示することができる。

【0014】また一般式(I)において、Yは水酸基、アミノ基、カルボキシル保護基、アミノ酸残基または2~5個のアミノ酸が結合したペプチド残基である。上記カルボキシル保護基としては、メチルアミノ基またはエチルアミノ基等の、モノまたはジ(低級)アルキルアミノ基；ベンジルアミノ基またはフェネチルアミノ基等の置換基を有してもよいアリールアルキルアミノ基；アニリド基またはナフチルアミノ基等の置換基を有してもよいアリルアミノ基；メトキシ基、エトキシ基等の低級アルコキシ基；フェニルオキシ基またはナフチルオキシ基等のアリールオキシ基；ベンジルオキシ基等のアリール(低級)アルコキシ基；複素環(低級)アルコキシ基等を例示することができる。また、アミノ酸残基としては、Gly、Pheを例示することができる。さらに、ペプチド残基としては、-Phe-Glu-NH<sub>2</sub>を例示することができる。

【0015】一般式(I)中、Aはグアニジノ基に保護基を有してもよいArg残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示し、Dはグアニジノ基に保護基を有してもよい

Arg残基である。それらの保護基としては、ニトロ基；Boc基、Z基またはアダマンチルオキシカルボニル基等のアルキルオキシカルボニル基；Tos基等の置換基を有してもよいアリールスルフォニル基；トリチル基等を例示することができる。一般式(I)中、Aがアミノ酸残基である場合、Tyr、Lys、His、Trp、Pro、Ala、Leu、Asn、Ser、Asp、Glu、Metなどのアミノ酸残基を例示することができる。

【0016】BはLeu残基または非天然型アミノ酸を含むそれ以外のアミノ酸残基であり、これらアミノ酸の有する側鎖官能基はCl<sub>2</sub>-Bzlを含む適当な保護基で保護されていてもよい。ここで用いられる具体的な非天然型アミノ酸を含むアミノ酸残基としては、D型アミノ酸の他、Trp、Ala、Ile、Asn、Tyr、Phe、Ser、Lys、Arg、His、Glu、Met、Gly、Pro、Asp、ノルロイシン、ter<sup>t</sup>-ロイシン、シクロヘキシルアラニン、フェニルグリシン、ホモフェニルアラニン、β-アラニン、ホモセリン、ベニシラミン、ナフチルアラニン等の天然型または非天然型アミノ酸の残基を例示することができる。

【0017】一方、一般式(II)において、E、F及びHはアミノ酸残基を示し、Gはグアニジノ基に保護基を有していてもよいアルギニン残基またはそれ以外のアミノ酸残基を示す。それらE、F及びHのアミノ酸としてはAla、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr、Valから任意に選ぶことが出来る。

【0018】上記本発明において用いられるペプチド類を合成するに当たっては、ペプチド合成において通常用いられる方法、例えば固相合成法または液相合成法を用いることが出来る。具体的には例えば、「続医薬品の開発 第14巻 ペプチド合成」監修 矢島治明(廣川書店発行、1991年)に記載の方法に準じて行えばよい。固相合成法としては例えば、有機溶媒に不溶性である支持体に、合成しようとするペプチドのC末端に対応するアミノ酸を結合させ、α-アミノ基及び側鎖官能基を適当な保護基で保護したアミノ酸をC端からN端方向の順番に、1アミノ酸ずつ縮合させる反応と、樹脂上に結合したアミノ酸またはペプチドのα-アミノ基の該保護基を脱離させる反応を交互に繰り返すことにより、ペプチド鎖を延長させる方法が用いられる。固相ペプチド合成法は、用いられる保護基の種類により、Boc法とFmoc法とに大別される。

【0019】この様にして目的ペプチドを合成した後、脱保護反応及びペプチド鎖の支持体からの切断を行う。ペプチド鎖との切断反応には、Boc法ではフッ化水素またはトリフルオロメタンスルホン酸を、またFmoc法ではTFAを用いるのが適当である。例えばBoc法

では、フッ化水素中で上記保護ペプチド樹脂をアニソール存在下に処理し、保護基の脱離と支持体からの切断を行ってペプチドを回収する。これを凍結乾燥することにより、粗ペプチドが得られる。一方、Fmoc法ではTFA中において上記と同様の操作で脱保護反応及びペプチド鎖の支持体からの切断反応を行うことが可能である。

【0020】この様にして得られた粗ペプチドを高速度液体クロマトグラフィー(以下HPLCと略記する)に供することにより分離・精製を行う。その溶出に当たっては、タンパク質の精製に通常用いられる水-アセトニトリル系溶媒を用いて最適条件下で行うのがよい。得られたクロマトピークに相当する画分を分取し、これを凍結乾燥する。この様にして精製した精製ペプチド画分について、マスマスペクトル分析による分子量解析、アミノ酸組成分析、或いはアミノ酸配列解析等により同定を行う。

【0021】本発明において用いられる、医薬として許容される上記ペプチド類の塩類とは生理学的に許容される塩類であり、例えば、塩酸、硫酸、リン酸、ギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、乳酸、酒石酸、マレイン酸、フマル酸、シュウ酸、リンゴ酸、クエン酸、オレイン酸、パルミチン酸等の無機酸または有機酸との塩；ナトリウム、カリウム、カルシウム等のアルカリ金属またはアルカリ土金属との塩；トリエチルアミン、ジエタノールアミン、ト-ブチルアミン、ベンジルアミン、ジシクロヘキシルアミン、アルギニン等の有機塩基との塩等が挙げられる。これらのペプチド類の塩類は、通常の塩生成反応を用いて調製することが出来る。

【0022】本発明に用いられる上記ペプチド類及び医薬として許容されるその塩類(以下、これらを単にペプチド類で代表する場合がある)は、ヒトIL-6の受容体もしくはその情報伝達タンパク質であるgp130に拮抗的に作用する結果、種々の活性発現を阻害することが出来ると考えられる。従って、本発明のペプチド類はIL-6過剰産生が原因と考えられる自己免疫疾患等の種々の疾患等の治療薬として有用である。この様な自己免疫疾患としては、膠原病としてSLE(全身性エリテマトーデス)、慢性関節リュウマチ、強皮症(進行性全身性硬化症)、結節性多発性動脈炎、ベーチェット病(腸型、血管型、神経型、口腔、皮膚、目、外陰部、関節、副睾丸、肺、腎)、乾癬、ウエゲナー肉芽腫、大動脈炎症候群、シェーグレン症候群、自己免疫性腎炎等、腎疾患としてI型糖尿病(膵島炎)、ネフローゼ症候群、糸球体腎炎(糸球体硬化症)、間質性腎炎、グッドパスチャー症候群、糖尿病性腎症、溶血性尿毒症、虚血性急性腎不全、慢性腎不全、糸球体内血栓抑制等が挙げられる。また、原発性粘膜炎、バセドウ病、悪性貧血、自己免疫性萎縮性胃炎、早発閉経、男性不妊症、重症筋無力症、若年性糖尿病、尋常性天疱瘡、類天疱瘡、

交感性眼炎、水晶性ぶどう膜炎、多発性硬化炎、溶血性貧血、持発性血小板減少症、原発性胆汁性肝硬変、活動性慢性肝炎、持発性肝硬変、潰瘍性大腸炎、円板状紅斑性狼瘡、皮膚筋炎、橋本甲状腺炎、アジソン病、クローン病等も挙げられる。

【0023】本発明において用いられる上記ペプチド類またはそれらの塩類は、カプセル剤、マイクロカプセル剤、錠剤、顆粒剤、粉末、トローチ剤、丸剤、軟膏、坐剤、注射剤、懸濁剤、シロップ剤、乳剤、液剤、腸溶コーティング剤、噴霧剤、吸入剤、点眼剤、点鼻剤等の慣用の医薬製剤の形で投与することが出来る。投与経路としては経口、皮下、筋肉内、静脈内、臍内、直腸内、口腔内（頬側及び舌下を含む）、経皮、鼻粘膜等を含む様々な経路によって投与することが出来る。

【0024】上記ペプチド類の製剤化に当たっては、医薬として許容される担体を用いて常法によって製造することが出来る。この様な担体としては、例えばスクロース、デンプン、マンニト、ソルビット、ラクトース、グルコース、セルロース、タルク、リン酸カルシウム、炭酸カルシウム等の賦形剤；例えばセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリプロピルピロリドン、ゼラチン、アラビアゴム、ポリエチレングリコール、スクロース、デンプン等の結合剤；例えばデンプン、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルデンプン、炭酸水素ナトリウム、リン酸カルシウム、クエン酸カルシウム等の崩壊剤；例えばステアリン酸マグネシウム、エアロジル、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム等の滑沢剤；例えばクエン酸、メントール、グリシン、オレンジ末等の矯味剤；例えば安息香酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、メチルパラベン、プロピルパラベン等の保存剤；例えばクエン酸、クエン酸ナトリウム、酢酸等の安定化剤；例えばメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ステアリン酸アルミニウム等の懸濁化剤；例えばヒドロキシプロピルメチルセルロース等の分散剤；例えば水等の希釈剤；例えばカカオバター、白色ワセリン、ポリエチレングリコール等の基剤ワックスのような、製剤化に慣用の有機または無機の各種担体が挙げられる。

【0025】上記本発明の薬剤の投与量は、症状の程度、患者の全身状態、年齢、体重等に応じて十分な治療（または予防）効果を発揮し得る量であり、投与経路や剤形等を考慮して適宜決定されるものであるが、有効成分であるペプチド類の量として、経口投与の場合は、通常成人において一日当たり $0.01\mu\text{g}\sim 2\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ であり、好ましくは $0.1\mu\text{g}\sim 200\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ である。また、通常成人において一回当たり $0.01\mu\text{g}\sim 200\text{mg}/\text{kg}$ であり、好ましくは $0.1\mu\text{g}\sim 100\text{mg}/\text{kg}$ である。また、非経口投与の場合は、通常成人において一日当たり $0.001\mu\text{g}\sim 1\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ であり、好ましくは $0.01\mu\text{g}\sim 200\text{mg}/\text{kg}$ である。

また、通常成人において一回当たり $0.001\mu\text{g}\sim 500\text{mg}/\text{kg}$ であり、好ましくは $0.01\mu\text{g}\sim 100\text{mg}/\text{kg}$ である。

#### 【0026】

【実施例】以下実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、下記実施例は本発明を制限するものではなく、前・後記の趣旨を逸脱しない範囲で実施することは全て本発明の技術的範囲に包含される。

【0027】（実施例1；化合物（1）： $\text{H-Trp-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH}_2$ の合成）化合物（1）の合成は、アプライド・バイオシステムズ社製ペプチド合成装置ABI430Aを用い、一般にBoc法と呼ばれる固相合成法で行った。使用した樹脂は、通常のBoc法による固相合成法においてC端がアミド基であるペプチドを合成する際に用いられるp-メチルベンズヒドリルアミン樹脂（MBHA樹脂、 $\text{NH}_2$ 基含量： $0.57\text{meq/g}$ 、（株）ペプチド研究所より購入）である。なお、使用樹脂量は $877\text{mg}$ （ $0.5\text{mmol}$ 相当量）である。本実施例で使用したアミノ酸は、Boc基でアミノ基を保護したL-アミノ酸であり、MBHA樹脂に対して等量関係で4倍に相当する量（今回は樹脂が $0.5\text{mmol}$ 等量なので、保護アミノ酸は $2\text{mmol}$ ）を用いた。具体的に用いた保護アミノ酸及びそれらの量を表-4に示す。化合物の合成は、上記樹脂に目的とするペプチドのC末端からN末端方向へ順次対応するアミノ酸を縮合反応させることにより得た。なお本発明において保護アミノ酸の樹脂への結合は、縮合させるアミノ酸がAsn、Gln及びArgの場合にはダブルカップリング法（B）で行い、それ以外の保護アミノ酸の場合には、シングルカップリング法（A）を用いた。得られた化合物は、HPLC分析とアミノ酸分析を行った。HPLC分析の条件及びアミノ酸分析法、固相合成法を以下に示す。なお、各実施例1から86で得られたペプチド類をそれぞれ化合物（1）～化合物（86）とし、その構造式を表-5、表-6に示す。

【0028】（HPLCによる分析条件）カラムにTSK gel ODS-120T（ $0.46\text{cm}\phi\times 25\text{cm}$ ）（東ソー社製）を使用し、溶出液にアセトニトリルと $0.1\%$ （W/W）TFA水溶液の混合溶液を流速 $1.0\text{ml/min}$ で使用した。検出装置はUV検出器を用い波長 $214\text{nm}$ で測定した。

【0029】（アミノ酸の測定） $6\text{N}$ 塩酸で各化合物を酸分解した（ $110^\circ\text{C}$ 、24時間）後、各化合物のアミノ酸組成を日立アミノ酸分析装置（L-8500）で分析した。

#### 【0030】（固相合成法）

（A）シングルカップリング法で行う場合

- $33\%$ TFAのDCM溶液中で80秒間攪拌する。
- 更に、 $50\%$ TFAのDCM溶液中で18.5分間攪拌する。



- c) 更に、DCMで3回洗浄する。
- d) 更に、10% DIEA の DMF 溶液で1分間攪拌を2回繰り返す。
- e) 更に、DMFで5回洗浄する。
- f) 縮合試薬としてDCCを用い、保護アミノ酸の縮合反応を行う。
- g) DCMで5回洗浄する。
- (B) ダブルカップリング法で行う場合
- a) 33% TFA の DCM 溶液中で80秒間攪拌する。
- b) 更に、50% TFA の DCM 溶液中で18.5分間攪拌する。
- c) 更に、DCMで3回洗浄する。
- d) 更に、10% DIEA の DMF 溶液で1分間攪拌を2回繰り返す。
- e) 更に、DMFで5回洗浄する。
- f) 縮合試薬としてDCC-HOBtを用い、保護アミノ酸の第1回目の縮合反応を行う。
- g) DCMで3回洗浄する。
- h) 次に、10% DIEA の DMF 溶液で1分間攪拌する。
- i) 更に、DMFで1回洗浄する。
- j) 更に、DCMで3回洗浄する。
- k) 縮合試薬としてDCC-HOBtを用い、保護アミノ酸の第2回目の縮合反応を行う。
- l) DMFで1回洗浄する。
- m) 次に、DCMで5回洗浄する。

【0031】上記固相合成法によって、C末端から順次保護アミノ酸を樹脂に縮合させ化合物(1)を樹脂上に合成した。次いでTFAを用いて化合物(1)のN末端保護基であるBoc基を除去した。得られたペプチド樹脂をガラスフィルター上にとり、DCMで洗浄後真空乾燥し1.49gの保護ペプチド樹脂を得た。この保護ペプチド樹脂からのペプチドの切り出しはLow-High法によった。すなわち、この保護ペプチド樹脂830mgを、フッ化水素反応装置(株)ペプチド研究所製を用い、フッ化水素9ml、アニソール1.0ml、エチルメチルスルフィド0.1mlの混液中で0℃で1時間処理した。混液中のフッ化水素と添加試薬を減圧留去した後、残渣を再びフッ化水素8ml、アニソール0.8ml、エタンジチオール0.08mlの混液中で0℃で1時間処理した。混液中のフッ化水素と添加試薬を減圧留去した後、残渣をガラスフィルター上でジエチルエーテルにより十分に洗浄し、減圧下で乾燥させた。次に、得られた残渣を0.1M酢酸水溶液で抽出し、その抽出液を凍結乾燥することにより化合物(1)を含む粗生成物230mgを得た。このうち100mgの粗生成物を分取用高速液体クロマトグラフィー(カラム:東ソー社製「TSK gel ODS120-T」、2.54cmφ×30cm)を用いて、アセトニトリルと0.1%(W/W)TFA水溶液の混合溶媒による直

線グラジュエント法で溶出させ、化合物(1)を含む画分を分取し、精製物32mgを得た。得られた精製物を50%(W/W)の酢酸溶液に溶解し、陽イオン交換樹脂Amberlite IRA-410(オルガノ株式会社製)に通すことにより、化合物(1)の酢酸塩25mgを得た。化合物(1)のHPLC測定結果及びアミノ酸分析による確認の結果をそれぞれ表-13、表-14に示す。ここに、表-13においてAは溶出開始時におけるアセトニトリルと0.1%(W/W)TFA水溶液の混合比率を示し、Bは溶出開始30分後の溶出液の混合比率を示す。溶出液の混合比率は直線的に変化させた。

【0032】(実施例2;化合物(2):H-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH<sub>2</sub>の合成)表-7に記載の保護アミノ酸を用いて、Boc法により化合物(2)を合成した。保護ペプチドの処理として、全ての保護アミノ酸を樹脂に縮合させた後に、TFAを用いて目的ペプチドのN末端保護基であるBoc基を除去した。得られたペプチド樹脂をガラスフィルター上にとり、DCMで洗浄後真空乾燥することにより、1.32gの保護ペプチド樹脂を得た。この保護ペプチド樹脂457mgを、フッ化水素反応装置(株)ペプチド研究所製を用い、フッ化水素9ml、アニソール1.0mlの混液中で0℃で1時間処理した。混液中のフッ化水素と添加試薬を減圧留去した後、残渣をガラスフィルター上でジエチルエーテルにより十分に洗浄し、減圧下で乾燥させた。この様にして得られた残渣を0.1M酢酸水溶液で抽出し、その抽出液を凍結乾燥することにより化合物(2)を含む粗生成物98mgを得た。そのうち、90mgの粗生成物を分取用HPLC(カラム:東ソー社製「TSK gel ODS120-T」、2.54cmφ×30cm)を用い、アセトニトリルと0.1%(W/W)TFA水溶液の混合溶媒による直線グラジュエント法で溶出させ、化合物(2)を含む画分を分取し、精製物32mgを得た。得られた精製物を50%(W/W)の酢酸溶液に溶解し、陽イオン交換樹脂Amberlite IRA-410(オルガノ株式会社製)に通すことにより、化合物(2)の酢酸塩28mgを得た。

【0033】(実施例3~10)表-5に記載した構造式の化合物(3)~(10)の合成を、実施例2の方法と同様にして、表-7に示す保護アミノ酸を使用して行った。なお、化合物(6)の合成の際には、C末端のアミノ酸がフリーのカルボン酸であるため、Boc-Ar g(Tos)-PAM樹脂をMBHA樹脂の代わりに使用した。

【0034】(実施例11;化合物(11):H-Arg-Leu-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>の合成)化合物(11)の合成は、簡易型ペプチド合成装置(国産化学(株)製、商標「コックさん」)を用い、一般にFmoc法と呼ばれる固相合成法で行った。本実施例に用いる樹脂は、C末端がアミド

基であるのでFmoc用のアミド樹脂(国産化学(株)より購入)(アミノ基含量が0.3mmol相当の樹脂量を使用する)を用いた。

【0035】Fmoc法による化合物(11)の合成  
a) DMF 6mlで上記樹脂を1分間攪拌する。これを3回繰り返す。

b) 更に、20%(W/W)ピペリジンのDMF溶液6mlで3分間攪拌する。これを3回繰り返す。

c) 更に、20%(W/W)ピペリジンのDMF溶液6mlで15分間攪拌する。

d) 更に、DCM 6mlで1分間攪拌する。これを2回繰り返す。

e) 更に、DMF 6mlで1分間攪拌する。これを2回繰り返す。

f) 更に、メタノール6mlで1分間攪拌する。

g) 更に、DCM 6mlで1分間攪拌する。これを2回繰り返す。

h) 更に、NMP 6mlで1分間攪拌する。これを3回繰り返す。

i) 次に、Fmoc-Gly-OH(357mg, 1.2mmol)の組成からなる保護アミノ酸のNMP(2.6ml)溶液に、HOBt(1.2mmol)及びTBTU(1.2mmol)のDMF溶液(2.4ml)、並びにDIEA(2.4mmol)のNMP溶液(1.0ml)を加え、室温で7分間攪拌する。なお、以下に用いるアミノ酸は全て上記樹脂中に含まれるアミノ基の含量の4倍量(1.2mmol)を加える。

j) 上記i)で得られた溶液を、上記a)~h)の工程を経た樹脂に添加した後、30分間攪拌する。

k) 上記樹脂をメタノール6mlで1分間攪拌し、洗浄する。

l) 更に、上記樹脂をNMP 6mlで1分間攪拌し、洗浄する。これを3回繰り返す。

m) 更に、上記樹脂をDCM 6mlで1分間攪拌、洗浄する。これを5回繰り返す。この様にして、樹脂にFmoc-Glyを結合させる。

o) 上記i)においてFmoc-Gly-OHの代わりにFmoc-Arg(Pmc)-OH(795mg, 1.2mmol)を用いたこと以外はi)と同様にして溶液を調製し、引き続きj)~m)の工程を行うことにより、樹脂に上記組成の保護アミノ酸を結合させる。

p) 上記i)においてFmoc-Gly-OHの代わりにFmoc-Leu-OH(424mg, 1.2mmol)を用いたこと以外はi)と同様にして溶液を調製し、引き続きj)~m)の工程を行うことにより、樹脂に上記組成の保護アミノ酸を結合させる。

q) 上記i)においてFmoc-Gly-OHの代わりにFmoc-Arg(Pmc)-OH(795mg, 1.2mmol)を用いたこと以外はi)と同様にして溶液を調製し、引き続きj)~m)の工程を行うことにより、樹脂に上記組成の保護アミノ酸を結合させる。

より、樹脂に上記組成の保護アミノ酸を結合させる。

【0036】化合物(11)を構成する全ての保護アミノ酸を樹脂に結合させた後、真空乾燥することにより840mgの保護ペプチド樹脂を得た。このうち、430mgの保護ペプチド樹脂を5%フェノールを含むTFA溶液(15ml)で処理し、目的ペプチドを樹脂から切り出すと同時に不要な側鎖保護基の除去を行った。反応液中の不溶物をガラスフィルターで除去し、濾液にジエチルエーテルを加え、得られた沈澱物をガラスフィルターで回収し、真空乾燥することにより化合物(11)を含む粗生成物70mgを得た。得られた粗生成物のうち40mgを、分取用HPLC(カラム:東ソー社製「TSK gel ODS120-T」、2.54cmφ×30cmL)を用い、アセトニトリルと0.1%(W/W)TFA水溶液の混合溶媒による直線グラジエント法で溶出させ、化合物(11)を含む画分を分取し、精製物25mgを得た。これを50%(W/W)の酢酸溶液に溶解し、陽イオン交換樹脂Amberlite IRA-410(オルガノ株式会社製)に通すことにより、化合物(11)の酢酸塩18mgを得た。

【0037】(実施例12~16)表-5に記載の化合物(12)~(16)は、表-7に示す保護アミノ酸を用い、実施例11と同様の方法により合成した。

【0038】(実施例17:化合物(17):H-Arg-Leu-Arg-NHCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成)Fmoc-Arg(Pmc)-OH(663mg, 1mmol)、TBTU(321mg, 1mmol)、HOBt(135mg, 1mmol)、DIEA(129mg, 1mmol)をDMF(10ml)に溶解し攪拌した。その溶液にベンジルアミン(107mg, 1mmol)を加え、5時間室温で攪拌した。次いで、溶媒を留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル溶液を水、10%クエン酸水溶液、冷却した5%重曹水溶液で洗浄、次いで乾燥し、酢酸エチルを留去しFmoc-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>を520mg得た。Fmoc-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(490mg, 0.65mmol)を20%ピペリジンを含むDMF溶液(4ml)に溶解し、1時間室温で攪拌した。減圧で溶媒を留去し、そこにFmoc-Leu(248mg, 0.7mmol)、TBTU(225mg, 0.7mmol)、HOBt(95mg, 0.7mmol)及びDIEA(91mg, 0.7mmol)のDMF(10ml)溶液を加え、15時間室温で攪拌した。溶媒を留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル溶液を水、10%クエン酸水溶液、冷却した5%重曹水溶液で洗浄、次いで乾燥し、酢酸エチルを留去しFmoc-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>を490mg得た。Fmoc-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(450mg, 0.52mmol)を20%ピペリジンを含むDMF溶液(4ml)に溶解し、1時間室温で

攪拌した。減圧で溶媒を留去し、そこにFmoc-Arg(Pmc)-OH(365mg, 0.55mmol)、TBTU(177mg, 0.55mmol)、HOBt(75mg, 0.55mmol)及びDIEA(78mg, 0.55mmol)のDMF(8ml)溶液を加え、15時間室温で攪拌した。溶媒を留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル溶液を水、10%クエン酸水溶液、冷却した5%重曹水溶液で洗浄、次いで乾燥し、酢酸エチルを留去しFmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>を700mg得た。Fmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(600mg)を20%ピペリジンを含むDMF溶液(4ml)に溶解し、1時間室温で攪拌した。減圧で溶媒を留去し、そこに5%フェノールを含むTFA溶液(10ml)を加え、1時間攪拌した。TFA溶液をジエチルエーテルに注ぎ、析出した沈澱物(120mg)を濾取した。この沈澱物を実施例11と同様にHPLCにより精製し、目的ペプチド(化合物17)36mgを得た。

【0039】(実施例18; 化合物(18): H-Arg-Leu-Arg-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成) ベンジルアミンをフェニルエチルアミンに代えた以外は実施例17と同様に反応させ、化合物(18)を25mg得た。

【0040】(実施例19; 化合物(19): H-Arg-Leu-Arg(NO<sub>2</sub>)-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成) 出発物質のFmoc-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>をBoc-Arg(NO<sub>2</sub>)-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>に代え、TFA溶液で処理し、Boc基を除去した以外は実施例17と同様に反応させ、化合物(19)を18mg得た。

【0041】(実施例20; 化合物(20): (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCO-Arg-Leu-Arg-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成) 実施例17と同様の方法により、Fmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>を合成後、Fmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(750mg)を20%ピペリジンを含むDMF溶液(5ml)に溶解し、1時間室温で攪拌した。溶媒を留去後、イソプロピルエーテルで沈澱化させて得られた沈澱物をDMFに溶解し、ピバリン酸(70mg)、TBTU、HOBt、DIEAをそれぞれ0.7mmol相当量を加え2時間室温で攪拌した。減圧で溶媒を留去後、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル溶液を水、10%クエン酸水溶液、冷却した5%重曹水溶液で洗浄、次いで乾燥し、酢酸エチルを留去後、5%フェノールを含むTFA溶液(10ml)を加え1時間攪拌した。TFA溶液をジエチルエーテルに注ぎ、析出した沈澱物(320mg)を濾取した。この沈澱物を実施例11と同様にHPLCにより精製し、化合物(20)を56mg得た。

【0042】(実施例21; 化合物(21): (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCO-Arg-Leu-Arg-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成) 実施例18と同様にして反応させ、Fmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>を合成後、実施例20に記載したと同様にピバリン酸を反応させ、化合物(21)を18mg得た。

【0043】(実施例22; 化合物(22): (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCO-Arg-Leu-Arg(NO<sub>2</sub>)-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成) 実施例19と同様にして反応させ、Fmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(NO<sub>2</sub>)-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>を合成後、実施例20に記載したと同様にピバリン酸を反応させ、化合物(22)を21mg得た。

【0044】(実施例23; 化合物(23): Z-Arg-Leu-Arg-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成) 実施例20と同様にして得られたFmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(250mg)をピペリジン処理後、DMF中でZ-OSu(50mg)と反応させ、実施例20と同様に処理し、化合物(23)を18mg得た。

【0045】(実施例24; 化合物(24): Z-Arg-Leu-Arg-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成) 実施例21と同様にして得られたFmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(Pmc)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(210mg)をピペリジン処理後、DMF中でZ-OSu(50mg)と反応させ、実施例20と同様に処理し、化合物(24)を21mg得た。

【0046】(実施例25; 化合物(25): Z-Arg-Leu-Arg(NO<sub>2</sub>)-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の合成) 実施例22と同様にして得られたFmoc-Arg(Pmc)-Leu-Arg(NO<sub>2</sub>)-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(260mg)をピペリジン処理後、DMF中でZ-OSu(60mg)と反応させ、実施例20と同様に処理し化合物(25)を18mg得た。

【0047】(実施例26~32) 化合物(26)~(32)の合成は実施例11に記載した方法と同様に行い、目的とする各化合物(26)~(32)を得た。

【0048】(実施例33~45) 化合物(33)~(45)の合成は実施例2に記載した方法と同様に行い、目的とする化合物を得た。但し化合物(41)の合成の際のみ、保護ペプチド樹脂からペプチドの切り出しのフッ化水素を用いた反応を実施例1に記載したLow-High法により行った。

【0049】(実施例46~86) 化合物(46)~(86)の合成は、実施例11に記載した方法と同様に行い目的とする各化合物(46)~(86)を得た。

【0050】

【表4】

表-4 実施例1で使用了保護アミノ酸の使用量

保護アミノ酸	使用量 (mg)
Boc-Arg (Tos) -OH	957
Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O	499
Boc-Arg (Tos) -OH	957
Boc-Tyr (Br-Z) -OH	987
Boc-Phe-OH	531
Boc-Ser (Bzl) -OH	591
Boc-Ser (Bzl) -OH	591
Boc-Asn-OH	464
Boc-Trp (CHO) -OH	665

【0051】

【表5】

表-5 実施例1～32で合成した化合物の構造式

化合物No	構造式
(1)	H-Trp-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(2)	H-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(3)	H-Ser-Ser-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(4)	H-Ser-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(5)	H-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(6)	H-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-OH
(7)	H-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(8)	H-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(9)	H-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-Phe-NH <sub>2</sub>
(10)	H-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-Phe-Glu-NH <sub>2</sub>
(11)	H-Arg-Leu-Arg-Gly-NH <sub>2</sub>
(12)	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(13)	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> CO-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(14)	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(15)	H-Phe-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(16)	Z-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(17)	H-Arg-Leu-Arg-NH-CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(18)	H-Arg-Leu-Arg-NH-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(19)	H-Arg-Leu-Arg(NO <sub>2</sub> )-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(20)	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> CCO-Arg-Leu-Arg-NH-CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(21)	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> CCO-Arg-Leu-Arg-NH-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(22)	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> CCO-Arg-Leu-Arg(NO <sub>2</sub> )-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(23)	Z-Arg-Leu-Arg-NH-CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(24)	Z-Arg-Leu-Arg-NH-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(25)	Z-Arg-Leu-Arg(NO <sub>2</sub> )-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(26)	H-Arg-Tle-Arg-NH <sub>2</sub>
(27)	H-Arg-Cha-Arg-NH <sub>2</sub>
(28)	H-Arg-Phg-Arg-NH <sub>2</sub>
(29)	H-Arg-Hph-Arg-NH <sub>2</sub>
(30)	H-Arg-Tyr(Cl <sub>2</sub> -Bzl)-Arg-NH <sub>2</sub>
(31)	H-Arg-D-Trp-Arg-NH <sub>2</sub>
(32)	H-Arg-β-Ala-Arg-NH <sub>2</sub>

【0052】

【表6】

表-6 実施例33~86で合成した化合物の構造式

化合物No	構造式	化合物No	構造式
(33)	H-Asn-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(60)	H-Phe-Tyr-Tyr-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(34)	H-Tyr-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(61)	H-Phe-Tyr-Lys-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(35)	H-Pro-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(62)	H-Phe-Tyr-His-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(36)	H-Leu-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(63)	H-Phe-Tyr-Trp-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(37)	H-Ser-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(64)	H-Phe-Tyr-Pro-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(38)	H-Lys-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(65)	H-Phe-Tyr-Ala-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(39)	H-Arg-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(66)	H-Phe-Tyr-Leu-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(40)	H-His-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(67)	H-Phe-Tyr-Asn-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(41)	H-Trp-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(68)	H-Phe-Tyr-Ser-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(42)	H-Ala-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>		
(43)	H-Met-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(69)	H-Phe-Tyr-Asp-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(44)	H-Asp-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(70)	H-Phe-Tyr-Glu-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(45)	H-Glu-Tyr-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(71)	H-Phe-Tyr-Met-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(46)	H-Phe-Leu-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(72)	H-Phe-Tyr-Arg-Trp-Arg-NH <sub>2</sub>
(47)	H-Phe-Phe-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(73)	H-Phe-Tyr-Arg-Ala-Arg-NH <sub>2</sub>
(48)	H-Phe-Ser-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(74)	H-Phe-Tyr-Arg-Ile-Arg-NH <sub>2</sub>
(49)	H-Phe-Arg-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(75)	H-Phe-Tyr-Arg-Asn-Arg-NH <sub>2</sub>
(50)	H-Phe-His-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(76)	H-Phe-Tyr-Arg-Tyr-Arg-NH <sub>2</sub>
(51)	H-Phe-Trp-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(77)	H-Phe-Tyr-Arg-Phe-Arg-NH <sub>2</sub>
(52)	H-Phe-Asp-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(78)	H-Phe-Tyr-Arg-Ser-Arg-NH <sub>2</sub>
(53)	H-Phe-Glu-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(79)	H-Phe-Tyr-Arg-Lys-Arg-NH <sub>2</sub>
(54)	H-Phe-Met-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(80)	H-Phe-Tyr-Arg-Arg-Arg-NH <sub>2</sub>
(55)	H-Phe-Pro-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(81)	H-Phe-Tyr-Arg-His-Arg-NH <sub>2</sub>
(56)	H-Phe-Ala-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(82)	H-Phe-Tyr-Arg-Glu-Arg-NH <sub>2</sub>
(57)	H-Phe-Lys-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(83)	H-Phe-Tyr-Arg-Met-Arg-NH <sub>2</sub>
(58)	H-Phe-Gly-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(84)	H-Phe-Tyr-Arg-Gly-Arg-NH <sub>2</sub>
(59)	H-Phe-Asn-Arg-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>	(85)	H-Phe-Tyr-Arg-Pro-Arg-NH <sub>2</sub>
		(86)	H-Phe-Tyr-Arg-Asp-Arg-NH <sub>2</sub>

【0053】

【表7】

表-7 実施例2~16で使用した保護アミノ酸量および各化合物合成量(mg)

実施例	保護アミノ酸	合成量
2	Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg Boc-Phe-OH 531mg, Boc-Ser(Bzl)-OH 591mg Boc-Ser(Bzl)-OH 591mg, Boc-Asn-OH 464mg	32
3	Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg Boc-Phe-OH 531mg, Boc-Ser(Bzl)-OH 591mg Boc-Ser(Bzl)-OH 591mg	28
4	Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg Boc-Phe-OH 531mg, Boc-Ser(Bzl)-OH 591mg	25
5	Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg Boc-Phe-OH 531mg	27
6	Boc-Arg(Tos)-OPAM <sup>特開</sup> 996mg(0.5mmol相当), Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg, Boc-Arg(Tos)-OH 957mg Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg, Boc-Phe-OH 531mg	30
7	Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg	36
8	Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg	25
9	Boc-Phe-OH 531mg, Boc-Arg(Tos)-OH 957mg Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg, Boc-Arg(Tos)-OH 957mg Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg, Boc-Phe-OH 531mg	27
10	Boc-Glu(Bzl)-OH 675mg, Boc-Phe-OH 531mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg Boc-Phe-OH 531mg	31
12	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Leu-OH 424mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Phenylpropionic acid 180mg	26
13	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Leu-OH 424mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Phenylacetic acid 164mg	32
14	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Leu-OH 424mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Tyr(tBu)-OH 551mg Phenylpropionic acid 180mg	21
15	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Leu-OH 424mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Phe-OH 465mg	34
16	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Leu-OH 424mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Z-OSu 126mg	29

表-8 実施例26～32で使用した保護アミノ酸量および各化合物合成量(mg)

実施例	保護アミノ酸	合成量
26	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Tle-OH 424mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg,	40
27	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Cha-OH 472mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg,	22
28	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Phy-OH 448mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg,	19
29	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Hph-OH 503mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg,	32
30	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Tyr(Cl <sub>2</sub> -Z)-OH 675mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg,	25
31	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-D-Trp-OH 665mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg,	31
32	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-β-Ala-OH 373mg Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg,	28

【0055】

【表9】

表-9 実施例33～45で使用した保護アミノ酸量および化合物合成量(mg)

共通	C末端1番目から4番目の保護アミノ酸 Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg Boc-Arg(Tos)-OH 957mg, Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg	
実施例	最後のN端の保護アミノ酸	合成量
33	Boc-Asn-OH 464mg	25
34	Boc-Tyr(Br-Z)-OH 987mg	31
35	Boc-Pro-OH 430mg	22
36	Boc-Leu-OH/H <sub>2</sub> O 499mg	35
37	Boc-Ser(Bzl)-OH 591mg	31
38	Boc-Lys(Cl-Z)-OH 829mg	29
39	Boc-Arg(Tos)-OH 957mg	25
40	Boc-His(Tos)-OH 819mg	34
41	Boc-Trp(CHO)-OH 665mg	24
42	Boc-Ala-OH 378mg	20
43	Boc-Met-OH 499mg	31
44	Boc-Asp(cHex)-OH 631mg	34
45	Boc-Glu(OBzl)-OH 675mg	27

【0056】

【表10】

表-10 実施例46～59で使用した保護アミノ酸量および化合物合成量(mg)

共通	C末端から1番目、2、3、5番目の保護アミノ酸	
	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	796mg, Fmoc-Leu-OH 424mg
	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	796mg, Fmoc-Phe-OH 465mg
実施例	4番目に導入する保護アミノ酸	合成量
46	Fmoc-Leu-OH 424mg	29
47	Fmoc-Phe-OH 465mg	24
48	Fmoc-Ser(tBu)-OH 460mg	27
49	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg	33
50	Fmoc-His(Trt)-OH 744mg	21
51	Fmoc-Trp-OH 512mg	34
52	Fmoc-Asp(O-tBu)-OH 494mg	29
53	Fmoc-Glu(O-tBu)-OH 511mg	38
54	Fmoc-Met-OH 446mg	21
55	Fmoc-Pro-OH 404mg	26
56	Fmoc-Ala-OH 374mg	33
57	Fmoc-Lys(Boc)-OH 562mg	31
58	Fmoc-Gly-OH 357mg	30
59	Fmoc-Asn(Mbh)-OH 697mg	29

【0057】

【表11】

表-11 実施例60～71で使用した保護アミノ酸量および化合物合成量(mg)

共通	C末端から1番目、2、4、5番目の保護アミノ酸	
	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	796mg, Fmoc-Leu-OH 424mg
	Fmoc-Tyr(tBu)-OH	551mg, Fmoc-Phe-OH 465mg
実施例	3番目に導入する保護アミノ酸	合成量
60	Fmoc-Tyr(tBu)-OH 551mg	22
61	Fmoc-Lys(Boc)-OH 562mg	27
62	Fmoc-His(Trt)-OH 744mg	24
63	Fmoc-Trp-OH 512mg	36
64	Fmoc-Pro-OH 404mg	34
65	Fmoc-Ala-OH 374mg	29
66	Fmoc-Leu-OH 424mg	19
67	Fmoc-Asn(Mbh)-OH 697mg	26
68	Fmoc-Ser(tBu)-OH 460mg	38
69	Fmoc-Asp(O-tBu)-OH 494mg	21
70	Fmoc-Glu(O-tBu)-OH 511mg	33
71	Fmoc-Met-OH 446mg	26

【0058】

【表12】



表-12 実施例72～86で使用了保護アミノ酸量および化合物合成量(mg)

共通	C末端から1、3、4、5番目の保護アミノ酸	
	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg, Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg	
実施例	2番目に導入する保護アミノ酸	
	合成量	
72	Fmoc-Trp-OH 512mg	18
73	Fmoc-Ala-OH 374mg	27
74	Fmoc-Ile-OH 424mg	31
75	Fmoc-Asn(Mbh)-OH 697mg	25
76	Fmoc-Tyr(tBu)-OH 551mg	28
77	Fmoc-Phe-OH 465mg	26
78	Fmoc-Ser(tBu)-OH 460mg	29
79	Fmoc-Lys(Boc)-OH 562mg	32
80	Fmoc-Arg(Pmc)-OH 796mg	25
81	Fmoc-His(Trt)-OH 744mg	33
82	Fmoc-Glu(O-tBu)-OH 511mg	23
83	Fmoc-Met-OH 446mg	25
84	Fmoc-Gly-OH 357mg	19
85	Fmoc-Pro-OH 404mg	26
86	Fmoc-Asp(O-tBu)-OH 494mg	22

【0059】

【表13】

表-13 化合物(1)～(86)のHPLC測定結果

No.	Rt	A	B	No.	Rt	A	B
(1)	16.7	20/80	40/60	(44)	17.2	10/90	30/70
(2)	17.9	15/85	35/65	(45)	17.5	10/90	30/70
(3)	17.6	15/85	35/65	(46)	19.5	15/85	35/65
(4)	17.7	15/85	35/65	(47)	18.7	17/83	37/63
(5)	14.6	15/85	35/65	(48)	15.6	11/89	31/69
(6)	16.4	15/85	35/65	(49)	15.1	12/88	32/68
(7)	18.0	9/91	29/71	(50)	16.2	11/89	31/69
(8)	18.4	2/98	22/78	(51)	17.8	19/81	39/61
(9)	17.9	20/80	40/60	(52)	15.3	12/88	32/68
(10)	16.1	20/80	40/60	(53)	15.7	12/88	32/68
(11)	21.7	5/95	25/75	(54)	16.9	15/85	35/65
(12)	19.8	14/86	44/56	(55)	18.7	14/86	34/66
(13)	21.1	11/89	41/59	(56)	14.6	13/87	33/67
(14)	14.4	25/75	45/55	(57)	15.6	11/89	31/69
(15)	20.4	7/93	37/63	(58)	14.7	13/87	33/67
(16)	20.7	15/85	45/55	(59)	15.1	11/89	31/69
(17)	20.3	11/89	41/59	(60)	18.3	17/83	37/63
(18)	20.0	13/87	43/57	(61)	14.7	15/85	35/65
(19)	13.9	25/75	45/55	(62)	16.2	15/85	35/65
(20)	21.7	18/82	48/52	(63)	15.1	25/75	45/55
(21)	21.1	20/80	50/50	(64)	19.1	15/85	35/65
(22)	13.2	35/65	55/45	(65)	17.7	15/85	35/65
(23)	21.5	10/90	40/60	(66)	18.3	20/80	40/60
(24)	21.1	12/88	42/58	(67)	16.8	15/85	35/65
(25)	16.0	37/63	57/43	(68)	17.1	15/85	35/65
(26)	23.3	2/98	22/78	(69)	17.5	15/85	35/65
(27)	21.3	4/96	34/66	(70)	17.2	15/85	35/65
(28)	20.9	0/100	16/84	(71)	16.0	20/80	40/60
(29)	20.6	3/97	33/67	(72)	17.2	17/83	37/63
(30)	20.7	17/83	47/53	(73)	16.2	9/91	29/71
(31)	21.2	2/98	32/68	(74)	17.4	14/86	34/66
(32)	13.7	0/100	20/80	(75)	14.9	8/92	28/72
(33)	16.1	10/90	30/70	(76)	14.9	13/87	33/67
(34)	16.6	12/88	32/68	(77)	15.7	16/84	36/64
(35)	16.8	10/90	30/70	(78)	17.2	7/93	27/73
(36)	17.9	12/88	32/68	(79)	16.1	7/93	27/73
(37)	16.3	10/90	30/70	(80)	15.8	8/92	28/72
(38)	15.5	10/90	30/70	(81)	17.5	7/93	27/73
(39)	16.2	10/90	30/70	(82)	15.0	9/91	29/71
(40)	15.8	10/90	30/70	(83)	16.6	13/87	33/67
(41)	18.6	15/85	35/65	(84)	15.8	8/92	28/72
(42)	15.3	10/90	30/70	(85)	15.1	11/89	31/69
(43)	17.3	12/88	32/68	(86)	15.9	8/92	28/72

【0060】

【表14】

表-14 化合物(1)～(42)のアミノ酸組成

番号	アミノ酸の実測値 (カッコ内は理論値を示す)
(1)	Asp 1.00(1), Ser 1.77(2), Leu 1.00(1), Tyr 1.01(1), Phe 1.01(1), Arg 1.98(2)
(2)	Asp 1.00(1), Ser 1.79(2), Leu 1.00(1), Tyr 1.01(1), Phe 1.01(1), Arg 1.98(2)
(3)	Ser 1.79(2), Leu 1.02(1), Tyr 1.00(1), Phe 1.02(1), Arg 1.97(2)
(4)	Ser 0.91(1), Leu 1.02(1), Tyr 0.99(1), Phe 1.02(1), Arg 1.98(2)
(5)	Leu 1.03(1), Tyr 0.97(1), Phe 1.01(1), Arg 1.99(2)
(6)	Leu 1.02(1), Tyr 0.99(1), Phe 1.01(1), Arg 1.98(2)
(7)	Leu 1.01(1), Tyr 1.03(1), Arg 1.96(2)
(8)	Leu 1.02(1), Arg 1.98(2)
(9)	Leu 0.97(1), Tyr 1.00(1), Phe 2.03(2), Arg 2.00(2)
(10)	Glu 0.95(1), Leu 0.97(1), Tyr 1.01(1), Phe 2.00(2), Arg 2.02(2)
(11)	Gly 1.01(1), Leu 1.03(1), Arg 1.96(2)
(12)	Leu 1.02(1), Arg 1.98(2)
(13)	Leu 1.01(1), Arg 1.99(2)
(14)	Leu 1.00(1), Tyr 1.03(1), Arg 1.97(2)
(15)	Leu 1.01(1), Phe 1.04(1), Arg 1.95(2)
(16)	Leu 1.02(1), Arg 1.98(2)
(17)	Leu 1.06(1), Arg 1.94(2)
(18)	Leu 1.03(1), Arg 1.97(2)
(19)	Leu 1.00(1), Arg 1.85(2)
(20)	Leu 1.06(1), Arg 1.94(2)
(21)	Leu 1.01(1), Arg 1.99(2)
(22)	Leu 1.00(1), Arg 1.88(2)
(23)	Leu 1.05(1), Arg 1.95(2)
(24)	Leu 1.03(1), Arg 1.97(2)
(25)	Leu 1.00(1), Arg 1.95(2)
(30)	Tyr 1.03(1), Arg 1.97(2)
(33)	Asp 0.96(1), Leu 0.97(1), Tyr 1.08(1), Arg 2.00(2)
(34)	Leu 0.97(1), Tyr 2.06(2), Arg 1.97(2)
(35)	Leu 0.99(1), Tyr 1.06(1), Arg 1.96(2), Pro 0.99(1)
(36)	Leu 1.93(2), Tyr 1.11(1), Arg 1.95(2)
(37)	Ser 0.83(1), Leu 0.96(1), Tyr 1.06(1), Arg 1.98(2)
(38)	Leu 0.95(1), Tyr 1.06(1), Lys 1.02(1), Arg 1.97(2)
(39)	Leu 0.98(1), Tyr 1.06(1), Arg 2.96(3)
(40)	Leu 0.99(1), Tyr 1.07(1), His 0.95(1), Arg 1.99(2)
(41)	Leu 0.97(1), Tyr 1.05(1), Arg 1.98(2)
(42)	Ala 0.96(1), Leu 0.96(1), Tyr 1.08(1), Arg 1.99(2)

【0061】

【表15】

表-15 化合物(43)～(86)のアミノ酸組成

番号	アミノ酸の実測値 (カッコ内は理論値を示す)
(43)	Met 0.96(1), Leu 0.98(1), Tyr 1.06(1), Arg 1.99(2)
(44)	Asp 0.98(1), Leu 0.98(1), Tyr 1.06(1), Arg 1.98(2)
(45)	Glu 0.95(1), Leu 0.98(1), Tyr 1.07(1), Arg 2.00(2)
(46)	Leu 2.00(2), Phe 1.04(1), Arg 1.96(2)
(47)	Leu 1.01(1), Phe 1.99(2), Arg 1.99(2)
(48)	Ser 0.85(1), Leu 1.01(1), Phe 0.99(1), Arg 2.00(2)
(49)	Leu 1.01(1), Phe 1.00(1), Arg 2.99(3)
(50)	Leu 1.02(1), Phe 0.99(1), His 1.00(1), Arg 1.99(2)
(51)	Leu 1.01(1), Phe 1.01(1), Arg 1.99(2)
(52)	Asp 1.01(1), Leu 1.00(1), Phe 0.99(1), Arg 1.99(2)
(53)	Glu 0.97(1), Leu 1.02(1), Phe 1.00(1), Arg 2.01(2)
(54)	Met 0.96(1), Leu 1.02(1), Phe 1.03(1), Arg 1.99(2)
(55)	Leu 1.01(1), Phe 1.01(1), Arg 1.99(2), Pro 1.00(1)
(56)	Ala 1.00(1), Leu 1.00(1), Phe 1.00(1), Arg 1.99(2)
(57)	Leu 1.07(1), Phe 0.96(1), Lys 0.97(1), Arg 2.01(2)
(58)	Gly 0.98(1), Leu 1.01(1), Phe 1.01(1), Arg 2.00(2)
(59)	Asp 0.96(1), Leu 1.05(1), Phe 0.98(1), Arg 2.01(2)
(60)	Leu 0.98(1), Tyr 2.02(2), Phe 1.01(1), Arg 0.99(1)
(61)	Leu 0.99(1), Lys 1.01(1), Tyr 1.00(1), Phe 1.01(1), Arg 1.00(1)
(62)	Leu 0.97(1), Tyr 1.00(1), Phe 0.99(1), His 1.02(1), Arg 1.02(1)
(63)	Leu 0.98(1), Tyr 1.02(1), Phe 1.01(1), Arg 1.00(1)
(64)	Leu 1.00(1), Tyr 1.05(1), Phe 1.03(1), Arg 1.01(1), Pro 0.90(1)
(65)	Ala 0.90(1), Leu 0.98(1), Tyr 1.05(1), Phe 1.06(1), Arg 1.02(1)
(66)	Leu 1.98(2), Tyr 1.05(1), Phe 1.00(1), Arg 0.98(1)
(67)	Asp 1.03(1), Leu 0.97(1), Tyr 1.00(1), Phe 1.00(1), Arg 0.99(1)
(68)	Ser 0.88(1), Leu 0.99(1), Tyr 1.01(1), Phe 1.01(1), Arg 0.99(1)
(69)	Asp 0.99(1), Leu 0.99(1), Tyr 1.02(1), Phe 1.01(1), Arg 0.99(1)
(70)	Glu 0.95(1), Leu 0.98(1), Tyr 1.05(1), Phe 1.01(1), Arg 1.01(1)
(71)	Met 0.99(1), Leu 1.01(1), Tyr 1.00(1), Phe 1.00(1), Arg 1.00(1)
(72)	Tyr 1.00(1), Phe 1.01(1), Arg 1.99(2)
(73)	Ala 1.01(1), Tyr 0.99(1), Phe 1.01(1), Arg 1.98(2)
(74)	Ile 0.99(1), Tyr 1.02(1), Phe 1.02(1), Arg 1.97(2)
(75)	Asp 1.02(1), Tyr 0.99(1), Phe 1.00(1), Arg 1.97(2)
(76)	Tyr 1.99(2), Phe 1.04(1), Arg 1.97(2)
(77)	Tyr 0.98(1), Phe 2.03(2), Arg 1.99(2)
(78)	Ser 0.87(1), Tyr 1.00(1), Phe 1.03(1), Arg 1.97(2)
(79)	Tyr 0.98(1), Phe 1.03(1), Lys 1.01(1), Arg 1.98(2)
(80)	Tyr 1.00(1), Phe 1.00(1), Arg 3.00(3)
(81)	Tyr 1.00(1), Phe 1.03(1), His 1.01(1), Arg 1.96(2)
(82)	Glu 0.98(1), Tyr 1.01(1), Phe 1.02(1), Arg 2.00(2)
(83)	Met 1.05(1), Tyr 0.99(1), Phe 1.01(1), Arg 1.97(2)
(84)	Gly 1.02(1), Tyr 1.00(1), Phe 1.00(1), Arg 1.98(2)
(85)	Tyr 0.99(1), Phe 1.00(1), Arg 1.99(2), Pro 1.02(1)
(86)	Asp 0.99(1), Tyr 1.00(1), Phe 1.04(1), Arg 1.97(2)

【0062】(試験例: ヒトSKW6, 4細胞を用いたIL-6によるIgM抗体産生抑制試験) ヒトリコンビナントIL-6(hrIL-6)に対する、本発明のペプチド類のIL-6拮抗作用を調べるために、被験物質として、上記実施例で合成した化合物のうち(17)及び(20)の2種類を用い、該化合物を最終濃度が500μg/mlになるように適宜希釈した。IgM抗体産生細胞としてヒトSKW6, 4細胞を用い、96穴マイクロプレートの各ウェルに1×10<sup>4</sup>個の上記細胞を加え、上記被験物質及び適当量のhrIL-6と共に、炭

酸ガスインキュベーター中で37℃で4日間培養した。培養終了後、1,200rpmで5分間遠心して得られた培養上清を集め、この上清中に含まれるIgM抗体量をELISA法により定量した。なお、対照試験として、被験物質を加えないで上記の方法と同様にしてIgM抗体量を定量した。上記化合物の添加によるIgM抗体産生阻害率を次式により算出した。その測定結果を表-16に示す。

【0063】

【数1】

$$\text{阻害率 (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{被験物質添加時のIgM抗体量}}{\text{被験物質非添加時のIgM抗体量}} \right) \times 100$$

【0064】

【表16】

表-16

化合物	阻害率 (%)
(17)	100
(20)	100

【0065】表-16から明らかなように、化合物(1

7)および(20)は、いずれも、IgM抗体産生を著しく阻害することが分かった。

【0066】

【発明の効果】本発明によれば、IL-6に対して拮抗的に作用し、その活性発現を阻害することが出来るペプチド類が提供されるので、IL-6に起因すると考えられる種々の自己免疫疾患の治療薬として有用である。

---

フロントページの続き

(72)発明者 伊藤 雅章  
兵庫県姫路市網干区新在家1365

(72)発明者 妹尾 八郎  
大阪府門真市千石東町12-1  
(72)発明者 関 信男  
大阪府茨木市橋の内2-12-28-303